

DOCKET NO.: 265792US0PCT

0 / 524666  
DT01 Rec'd PCT/PTC 11 FEB 2005

**IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**

IN RE APPLICATION OF: Katsuaki MIYAJI, et al.

SERIAL NO.: NEW U.S. PCT APPLICATION

FILED: HERewith

INTERNATIONAL APPLICATION NO.: PCT/JP03/10353

INTERNATIONAL FILING DATE: August 14, 2003

FOR: THROMBOPOIETIN RECEPTOR ACTIVATORS AND PROCESS FOR THEIR  
PRODUCTION

**REQUEST FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. 119**  
**AND THE INTERNATIONAL CONVENTION**

Commissioner for Patents  
Alexandria, Virginia 22313

Sir:

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicant claims as priority:

**COUNTRY**  
Japan

**APPLICATION NO**  
2002-236167

**DAY/MONTH/YEAR**  
14 August 2002

Certified copies of the corresponding Convention application(s) were submitted to the International Bureau in PCT Application No. PCT/JP03/10353. Receipt of the certified copy(s) by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.

Respectfully submitted,  
OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,  
MAIER & NEUSTADT, P.C.



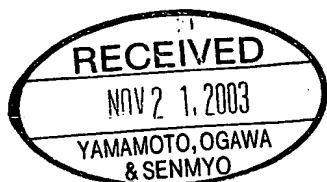
Norman F. Oblon  
Attorney of Record  
Registration No. 24,618  
Surinder Sachar  
Registration No. 34,423

Customer Number

**22850**

(703) 413-3000  
Fax No. (703) 413-2220  
(OSMMN 08/03)

**BEST AVAILABLE COPY**



## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

SENMYO, Kenji  
Torimoto Kogyo Bldg.  
38, Kanda-Higashimatsushitacho  
Chiyoda-ku, Tokyo 101-0042  
Japan

FEB 2005

NOTIFICATION CONCERNING  
SUBMISSION OR TRANSMITTAL  
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

Date of mailing (day/month/year) 13 November 2003 (13.11.03)	
Applicant's or agent's file reference NC-271	<b>IMPORTANT NOTIFICATION</b>
International application No. PCT/JP03/10353	International filing date (day/month/year) 14 August 2003 (14.08.03)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 14 August 2002 (14.08.02)
Applicant NISSAN CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. et al	

1. The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
3. An asterisk(\*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, **the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c)** which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
4. The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, **the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c)** which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
14 Augu 2002 (14.08.02)	2002-236167	JP	06 Nove 2003 (06.11.03)

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No. (41-22) 338.70.10</p>	<p>Authorized officer Farid ABBOU</p> <p>Telephone No. (41-22) 338 8169</p>
---	---

10 / 524666  
11 FEB 2005  
PCT/JP 03/10353

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

19.09.03

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日      2 0 0 2 年   8 月 1 4 日  
Date of Application:

REC'D 06 NOV 2003

出 願 番 号      特 願 2 0 0 2 - 2 3 6 1 6 7  
Application Number:  
[ST. 10/C]:      [ J P 2 0 0 2 - 2 3 6 1 6 7 ]

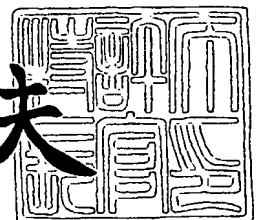
出 願 人      日 産 化 学 工 業 株 式 会 社  
Applicant(s):

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 3 年 1 0 月 2 3 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今 井 康 夫



BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願

【整理番号】 4419000

【提出日】 平成14年 8月14日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C07C291/10

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県船橋市坪井町 7 2 2 番地 1 日産化学工業株式会社 物質科学研究所内

【氏名】 宮地 克明

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県南埼玉郡白岡町大字白岡 1 4 7 0 日産化学工業株式会社 生物科学研究所内

【氏名】 石綿 紀久

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県南埼玉郡白岡町大字白岡 1 4 7 0 日産化学工業株式会社 生物科学研究所内

【氏名】 中村 隆典

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県南埼玉郡白岡町大字白岡 1 4 7 0 日産化学工業株式会社 生物科学研究所内

【氏名】 西野 泰斗

【発明者】

【住所又は居所】 東京都世田谷区赤堤 3 丁目 6 番地 4 号

【氏名】 神谷 久男

【特許出願人】

【識別番号】 000003986

【氏名又は名称】 日産化学工業株式会社

【代表者】 藤本 修一郎

【電話番号】 047-465-1120

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 005212

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【ブルーフの要否】 要

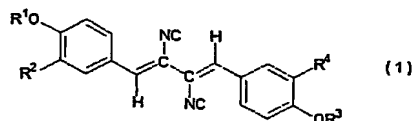
【書類名】 明細書

【発明の名称】 トロンボポエチンレセプター活性化剤ならびにそれらの製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 式 (1)

【化 1】



[式中、 $R^1$ 及び $R^3$ はそれぞれ独立に、水素原子、 $SO_3H$ 、 $C_{1-6}$ アルキル基、 $C_{1-6}$ アルキルカルボニル基又は $C_{6-18}$ アリールカルボニル基（該 $C_{1-6}$ アルキル基、 $C_{1-6}$ アルキルカルボニル基及び $C_{6-18}$ アリールカルボニル基は、ハロゲン原子、水酸基、 $C_{2-6}$ アルケニル基、 $C_{1-6}$ アルコキシ基、 $C_{1-6}$ アルコキシカルボニル基、 $C_{6-18}$ アリール基、2-ピリジル基、3-ピリジル基、4-ピリジル基、2-フラニル基、3-フラニル基、2-チエニル基、3-チエニル基（該 $C_{6-18}$ アリール基、2-ピリジル基、3-ピリジル基、4-ピリジル基、2-フラニル基、3-フラニル基、2-チエニル基及び3-チエニル基は、ハロゲン原子又は $C_{1-6}$ アルキル基で任意に置換されていてもよい。）又は $NR^9R^{10}$ （式中、 $R^9$ 及び $R^{10}$ はそれぞれ独立に水素原子若しくは $C_{1-6}$ アルキル基（該 $C_{1-6}$ アルキル基は、 $C_{6-18}$ アリール基で任意に置換されていてもよい。）を意味するか又は $R^9$ 及び $R^{10}$ が一緒になって $-(CH_2)_nX(CH_2)_m-$ （式中、 $X$ は、 $CR^{11}R^{12}$ （式中、 $R^{11}$ 及び $R^{12}$ はそれぞれ独立に水素原子又は $C_{1-6}$ アルキル基（該 $C_{1-6}$ アルキル基は、 $C_{6-18}$ アリール基で任意に置換されていてもよい。）を意味する。）、 $NR^{13}$ （式中、 $R^{13}$ は、水素原子又は $C_{1-6}$ アルキル基（該 $C_{1-6}$ アルキル基は、 $C_{6-18}$ アリール基で任意に置換されていてもよい。）を意味する。）、 $O$ 又は $S$ を意味し、 $n$ は、1、2又は3を意味し、 $m$ は、1、2又は3を意味するが、 $n+m$ は、3、4又は5である。）を意味する。）で任意に置換されていてもよい。）を意味し、 $R^2$ 及び $R^4$ はそれぞれ独立に、水素原子、水酸基又は $C_{1-6}$ アルコキシ基を意味する。] で表されるトロンボポエチンレセプター活性化剤。

【請求項2】  $R^1$ 及び $R^3$ がそれぞれ独立に、水素原子、 $SO_3H$ 、 $C_{1-6}$ アルキル基、 $C_{1-6}$ アルキルカルボニル基又は $C_{6-18}$ アリールカルボニル基（該 $C_{1-6}$ アルキル基、 $C_{1-6}$ アルキルカルボニル基及び $C_{6-18}$ アリールカルボニル基は、水酸基で任意に置換されていてもよい。）である請求項1記載のトロンボポエチンレセプター活性化剤。

【請求項3】  $R^1$ 及び $R^3$ がそれぞれ独立に、水素原子、 $SO_3H$ 、 $C_{1-6}$ アルキル基、 $C_{1-6}$ アルキルカルボニル基又は $C_{6-18}$ アリールカルボニル基（該 $C_{1-6}$ アルキル基、 $C_{1-6}$ アルキルカルボニル基及び $C_{6-18}$ アリールカルボニル基は、 $NR^9R^{10}$ （式中、 $R^9$ 及び $R^{10}$ はそれぞれ独立に水素原子若しくは $C_{1-6}$ アルキル基（該 $C_{1-6}$ アルキル基は、 $C_{6-18}$ アリール基で任意に置換されていてもよい。）を意味するか又は $R^9$ 及び $R^{10}$ が一緒になって $-(CH_2)_nX(CH_2)_m-$ （式中、 $X$ は、 $CR^{11}R^{12}$ （式中、 $R^{11}$ 及び $R^{12}$ はそれぞれ独立に水素原子又は $C_{1-6}$ アルキル基（該 $C_{1-6}$ アルキル基は、 $C_{6-18}$ アリール基で任意に置換されていてもよい。）を意味する。）、 $NR^{13}$ （式中、 $R^{13}$ は、水素原子又は $C_{1-6}$ アルキル基（該 $C_{1-6}$ アルキル基は、 $C_{6-18}$ アリール基で任意に置換されていてもよい。）を意味する。）、 $O$ 又は $S$ を意味し、 $n$ は、1、2又は3を意味し、 $m$ は、1、2又は3を意味するが、 $n+m$ は、3、4又は5である。）を意味する。）で任意に置換されていてもよい。）である請求項1記載のトロンボポエチンレセプター活性化剤。

【請求項4】  $R^1$ 及び $R^3$ がそれぞれ独立に、水素原子又は $C_{1-6}$ アルキル基である請求項1記載のトロンボポエチンレセプター活性化剤。

【請求項5】  $R^1$ 及び $R^3$ がそれぞれ独立に、水素原子又はメチル基であり、 $R^2$ 及び $R^4$ がそれぞれ独立に、水素原子、水酸基又はメトキシ基である請求項4記載のトロンボポエチンレセプター活性化剤。

【請求項6】  $R^2$ が水素原子である請求項1、請求項2、請求項3、請求項4又は請求項5記載のトロンボポエチンレセプター活性化剤。

【請求項7】  $R^4$ が水素原子である請求項6記載のトロンボポエチンレセプター活性化剤。

【請求項8】 請求項1記載のトロンボポエチンレセプター活性化剤、その

プロドラッグ、若しくは製薬上許容される塩又はそれらの溶媒和物を有効成分として含有するトロンボポエチンレセプター活性化作用が有効な疾患の予防・治療・改善薬。

【請求項 9】 請求項 1 記載のトロンボポエチンレセプター活性化剤、そのプロドラッグ、若しくは製薬上許容される塩又はそれらの溶媒和物を有効成分として含有する血小板増多剤。

【請求項 10】 請求項 2 記載のトロンボポエチンレセプター活性化剤、そのプロドラッグ、若しくは製薬上許容される塩又はそれらの溶媒和物を有効成分として含有する血小板増多剤。

【請求項 11】 請求項 3 記載のトロンボポエチンレセプター活性化剤、そのプロドラッグ、若しくは製薬上許容される塩又はそれらの溶媒和物を有効成分として含有する血小板増多剤。

【請求項 12】 請求項 4 記載のトロンボポエチンレセプター活性化剤、そのプロドラッグ、若しくは製薬上許容される塩又はそれらの溶媒和物を有効成分として含有する血小板増多剤。

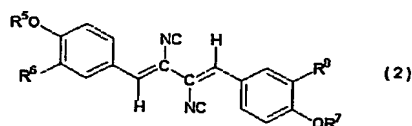
【請求項 13】 請求項 5 記載のトロンボポエチンレセプター活性化剤、そのプロドラッグ、若しくは製薬上許容される塩又はそれらの溶媒和物を有効成分として含有する血小板増多剤。

【請求項 14】 請求項 6 記載のトロンボポエチンレセプター活性化剤、そのプロドラッグ、若しくは製薬上許容される塩又はそれらの溶媒和物を有効成分として含有する血小板増多剤。

【請求項 15】 請求項 7 記載のトロンボポエチンレセプター活性化剤、そのプロドラッグ、若しくは製薬上許容される塩又はそれらの溶媒和物を有効成分として含有する血小板増多剤。

【請求項 16】 バシペトスポラ (Basipetospora) 属に属する微生物を培養し、その培養液から式 (2)

【化 2】





(式中、 $R^5$ 及び $R^7$ はそれぞれ独立に、水素原子、又はメチル基を意味し、 $R^6$ 及び $R^8$ はそれぞれ独立に、水素原子、水酸基又はメトキシ基を意味する。)で表される化合物を採取することを特徴とする該化合物の製造法。

【請求項17】 微生物がバシペトスポラ・エスピー (Basipetospora sp.) である請求項16記載の製造法。

【請求項18】 受託番号FERM P-18940として寄託されている微生物バシペトスポラ・エスピー (Basipetospora sp.) No. 1142株。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明はトロンボポエチンレセプターに親和性及びアゴニスト作用を有することによりトロンボポエチンレセプター活性化作用が有効な疾患の予防・治療・改善薬に関するものである。具体的には例えば造血幹細胞、巨核球前駆細胞、巨核球細胞の分化増殖を促進し、血小板増多作用を示しうる化合物あるいは血管内皮および内皮前駆細胞の分化増殖を促進し血管新生療法に用いたり、抗動脈硬化作用を示しうる化合物を構成成分とする医薬組成物ならびにそれらの製造方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

トロンボポエチンは332個のアミノ酸からなるサイトカインであり、レセプターを介して造血幹細胞、巨核球前駆細胞、巨核球細胞の分化、増殖を刺激することにより血小板産生を亢進することから血液疾患の病態に対する薬剤として期待されている。また最近では、血管内皮および内皮前駆細胞の分化増殖を促進することが報告され (Microvasc Res 1999 :58, 108-113、Circ Res 1999:84, 785-796、Blood 2001:98, 71a)、血管新生療法や抗動脈硬化、心血管イベント抑制などが期待されている。現在までにトロンボポエチンレセプターを介して血小板産生を調節する生理活性物質としては、トロンボポエチンそのもののほか、特開平10-72492号公報 (W096/40750)、W096/40189、W098/25965等に記載のトロ

ンボポエチンレセプターに親和性を有する低分子ペプチドが知られている。又、ペプチド誘導体ではない低分子化合物でトロンボポエチンレセプターを介して血小板産生を促進する化合物の探索も試みられており、トロンボポエチンレセプターに親和性のある低分子化合物の報告が数件なされている。

- 1) 北陸製薬より出願されている 1, 4-ベンゾチアゼピン誘導体 (特開平 1 1-1 4 7 7 号公報、特開平 1 1-1 5 2 2 7 6 号公報)
- 2) 塩野義製薬より出願されている特許の国際公開公報、W001-07423号及びW001-53267号
- 3) スミスクライン ビーチャム (Smithkline Beecham Corp) より出願されている特許の国際公開公報、W000-35446号、W000-66112号、W001-34585号、W001-17349号、W001-39773号、W0-01-21180号及びW001-89457号
- 4) 鳥居薬品より出願されている特開2001-97948

一方、キサントシリン類縁体は広く抗菌作用を有することが知られており、又それ以外にも、抗ウイルス作用、アロマターゼ阻害作用 (特開平 0 7-6 9 8 8 3 号公報)、抗腫瘍剤 (特開平 0 2-3 0 4 0 5 8 号公報及び特開平 0 4-1 8 2 4 2 7 号公報)、駆虫剤 (特開平 0 2-4 0 3 2 4 号公報)、プロスタグランジン合成阻害作用、血小板凝集抑制作用等があることが報告されている。しかし、トロンボポエチンレセプター親和性及びアゴニスト活性については何ら報告されていなかった。

### 【 0 0 0 3 】

#### 【発明が解決しようとする課題】

トロンボポエチンやトロンボポエチンレセプターに親和性を有する低分子ペプチドは、消化管で容易に分解されてしまう可能性が高く、通常、経口投与は困難であり、トロンボポエチンそのものには抗トロンボポエチン抗体の出現が報告されている。

又、ペプチド誘導体ではない低分子化合物は、経口投与が可能である可能性が高いものの、未だ実用可能な薬剤が上市されるに至ってはいない。

### 【 0 0 0 4 】

そのため、優れたトロンボポエチンレセプター親和性及びアゴニスト活性を有

し、トロンボポエチンレセプター活性化作用が有効な疾患の予防・治療・改善薬となり、且つ経口投与も可能な低分子化合物が望まれていた。具体的には例えば造血幹細胞、巨核球前駆細胞、巨核球細胞の分化増殖を促進し、血小板増多剤、あるいは他の血球系細胞増多剤となりうる低分子化合物、あるいは血管内皮および内皮前駆細胞の分化増殖を促進し血管新生療法に用いたり、動脈硬化を予防・治療する薬剤となりうる低分子化合物が望まれていた。

#### 【0005】

#### 【発明が解決するための手段】

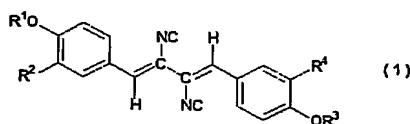
本発明者らはトロンボポエチンレセプター親和性及びアゴニスト活性を有する低分子化合物を見出すべく、鋭意検討したところ、意外にも従来公知であるキサントシリンおよびその類縁体及びそれらの誘導体がトロンボポエチンレセプターに親和性及びアゴニスト作用を有することを見出し、又、キサントシリン類縁体の新規な製造方法も見出し、本発明を完成するに至った。

#### 【0006】

即ち、本発明は式(1)

#### 【0007】

#### 【化3】



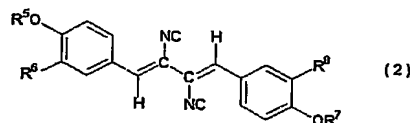
#### 【0008】

[式中、R<sup>1</sup>及びR<sup>3</sup>はそれぞれ独立に、水素原子、SO<sub>3</sub>H、C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>アルキルカルボニル基又はC<sub>6-18</sub>アリールカルボニル基(該C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>アルキルカルボニル基及びC<sub>6-18</sub>アリールカルボニル基は、ハロゲン原子、水酸基、C<sub>2-6</sub>アルケニル基、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基、C<sub>1-6</sub>アルコキシカルボニル基、C<sub>6-18</sub>アリール基、2-ピリジル基、3-ピリジル基、4-ピリジル基、2-フラニル基、3-フラニル基、2-チエニル基、3-チエニル基(該C<sub>6-18</sub>アリール基、2-ピリジル基、3-ピリジル基、4-ピリジル基、2-フラニル基、3-フラニル基、2-チエニル基及び3-チエニル基は、ハロゲン原子又

はC<sub>1-6</sub>アルキル基で任意に置換されていてもよい。)又はNR<sup>9</sup>R<sup>10</sup>(式中、R<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>はそれぞれ独立に水素原子若しくはC<sub>1-6</sub>アルキル基(該C<sub>1-6</sub>アルキル基は、C<sub>6-18</sub>アリール基で任意に置換されていてもよい。)を意味するか又はR<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>が一緒になって-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>X(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>- (式中、Xは、CR<sup>11</sup>R<sup>12</sup>(式中、R<sup>11</sup>及びR<sup>12</sup>はそれぞれ独立に水素原子又はC<sub>1-6</sub>アルキル基(該C<sub>1-6</sub>アルキル基は、C<sub>6-18</sub>アリール基で任意に置換されていてもよい。)を意味する。)、NR<sup>13</sup>(式中、R<sup>13</sup>は、水素原子又はC<sub>1-6</sub>アルキル基(該C<sub>1-6</sub>アルキル基は、C<sub>6-18</sub>アリール基で任意に置換されていてもよい。)を意味する。)、O又はSを意味し、nは、1、2又は3を意味し、mは、1、2又は3を意味するが、n+mは、3、4又は5である。)を意味する。)で任意に置換されていてもよい。)を意味し、R<sup>2</sup>及びR<sup>4</sup>はそれぞれ独立に、水素原子、水酸基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシ基を意味する。]で表されるトロンボポエチンレセプター活性化剤に関するものであり、又、該トロンボポエチンレセプター活性化剤、そのプロドラッグ、若しくは製薬上許容される塩又はそれらの溶媒和物を有効成分として含有するトロンボポエチンレセプター活性化作用が有効な疾患の予防・治療・改善薬に関するものであり、又、該トロンボポエチンレセプター活性化剤、そのプロドラッグ、若しくは製薬上許容される塩又はそれらの溶媒和物を有効成分として含有する血小板増多剤に関するものであり、又、バシペトスポラ(Basipetospora)属に属する微生物を培養し、その培養液から式(2)

【0009】

【化4】



【0010】

(式中、R<sup>5</sup>及びR<sup>7</sup>はそれぞれ独立に、水素原子、又はメチル基を意味し、R<sup>6</sup>及びR<sup>8</sup>はそれぞれ独立に、水素原子、水酸基又はメトキシ基を意味する。)で表される化合物を採取することを特徴とする該化合物の製造法に関するものであり、又、受託番号FERM P-18940として寄託されている微生物バシペ

トスポラ・エスピー (Basipetospora sp.) No. 1142 株に関するものである。

【0011】

【発明の実施の形態】

以下、更に詳細に本発明を説明する。

【0012】

尚、本発明中「n」はノルマルを「i」はイソを「s」はセカンダリーを「t」はターシャリーを「c」はシクロを「o」はオルトを「m」はメタを「p」はパラを意味する。

【0013】

まず、置換基 $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ 及び $R^4$ の各置換基における語句について説明する。

【0014】

C<sub>1-6</sub>アルキル基としては、直鎖、分枝又は環状のものを含んでいてもよく、メチル、エチル、n-プロピル、i-プロピル、c-プロピル、n-ブチル、i-ブチル、s-ブチル、t-ブチル、c-ブチル、1-メチル-c-プロピル、2-メチル-c-プロピル、n-ペンチル、1-メチル-n-ブチル、2-メチル-n-ブチル、3-メチル-n-ブチル、1,1-ジメチル-n-プロピル、1,2-ジメチル-n-プロピル、2,2-ジメチル-n-プロピル、1-エチル-n-プロピル、c-ペンチル、1-メチル-c-ブチル、2-メチル-c-ブチル、3-メチル-c-ブチル、1,2-ジメチル-c-プロピル、2,3-ジメチル-c-プロピル、1-エチル-c-プロピル、2-エチル-c-プロピル、n-ヘキシル、1-メチル-n-ペンチル、2-メチル-n-ペンチル、3-メチル-n-ペンチル、4-メチル-n-ペンチル、1,1-ジメチル-n-ブチル、1,2-ジメチル-n-ブチル、1,3-ジメチル-n-ブチル、2,2-ジメチル-n-ブチル、2,3-ジメチル-n-ブチル、3,3-ジメチル-n-ブチル、1-エチル-n-ブチル、2-エチル-n-ブチル、1,1,2-トリメチル-n-プロピル、1,2,2-トリメチル-n-プロピル、1-エチル-1-メチル-n-プロピル、1-エチル-2-メチル-n-プロピル、c-ヘキシル、1-メチル-c-ペンチル、2-メチル-c-ペンチル、3-メチル-c-ペンチル、1-エチル-c-ブチル、2-エチル-c-ブチル、3-エチル-c-ブチル、1,2-ジメチル-c-ブチル、1,3-ジメチル-c-ブチル、2,2-ジメチル-c-ブチル、2,3-ジメチル-c-ブチル、

ル-c-ブチル、2,4-ジメチル-c-ブチル、3,3-ジメチル-c-ブチル、1-n-プロピル-c-プロピル、2-n-プロピル-c-プロピル、1-i-プロピル-c-プロピル、2-i-プロピル-c-プロピル、1,2,2-トリメチル-c-プロピル、1,2,3-トリメチル-c-プロピル、2,2,3-トリメチル-c-プロピル、1-エチル-2-メチル-c-プロピル、2-エチル-1-メチル-c-プロピル、2-エチル-2-メチル-c-プロピル及び2-エチル-3-メチル-c-プロピル等が挙げられる。

### 【0015】

C<sub>1</sub>-6 アルキルカルボニル基としては、直鎖、分枝又は環状のものを含んでもよく、メチルカルボニル、エチルカルボニル、n-プロピルカルボニル、i-プロピルカルボニル、c-プロピルカルボニル、n-ブチルカルボニル、i-ブチルカルボニル、s-ブチルカルボニル、t-ブチルカルボニル、c-ブチルカルボニル、1-メチル-c-プロピルカルボニル、2-メチル-c-プロピルカルボニル、n-ペンチルカルボニル、1-メチル-n-ブチルカルボニル、2-メチル-n-ブチルカルボニル、3-メチル-n-ブチルカルボニル、1,1-ジメチル-n-プロピルカルボニル、1,2-ジメチル-n-プロピルカルボニル、2,2-ジメチル-n-プロピルカルボニル、1-エチル-n-プロピルカルボニル、c-ペンチルカルボニル、1-メチル-c-ブチルカルボニル、2-メチル-c-ブチルカルボニル、3-メチル-c-ブチルカルボニル、1,2-ジメチル-c-プロピルカルボニル、2,3-ジメチル-c-プロピルカルボニル、1-エチル-c-プロピルカルボニル、2-エチル-c-プロピルカルボニル、n-ヘキシルカルボニル、1-メチル-n-ペンチルカルボニル、2-メチル-n-ペンチルカルボニル、3-メチル-n-ペンチルカルボニル、4-メチル-n-ペンチルカルボニル、1,1-ジメチル-n-ブチルカルボニル、1,2-ジメチル-n-ブチルカルボニル、1,3-ジメチル-n-ブチルカルボニル、2,2-ジメチル-n-ブチルカルボニル、2,3-ジメチル-n-ブチルカルボニル、3,3-ジメチル-n-ブチルカルボニル、1-エチル-n-ブチルカルボニル、2-エチル-n-ブチルカルボニル、1,1,2-トリメチル-n-プロピルカルボニル、1,2,2-トリメチル-n-プロピルカルボニル、1-エチル-1-メチル-n-プロピルカルボニル、1-エチル-2-メチル-n-プロピルカルボニル、c-ヘキシルカルボニル、1-メチル-c-ペンチルカルボニル、2-メチル-c-ペンチルカルボニル、3-メチル-c-ペンチルカルボニル、1-エチル-c-ブチルカルボニル、2-エチル-c-ブチルカルボニル、3-エチル

-c-ブチルカルボニル、1,2-ジメチル-c-ブチルカルボニル、1,3-ジメチル-c-ブチルカルボニル、2,2-ジメチル-c-ブチルカルボニル、2,3-ジメチル-c-ブチルカルボニル、2,4-ジメチル-c-ブチルカルボニル、3,3-ジメチル-c-ブチルカルボニル、1-n-プロピル-c-プロピルカルボニル、2-n-プロピル-c-プロピルカルボニル、1-i-プロピル-c-プロピルカルボニル、2-i-プロピル-c-プロピルカルボニル、1,2,2-トリメチル-c-プロピルカルボニル、1,2,3-トリメチル-c-プロピルカルボニル、2,2,3-トリメチル-c-プロピルカルボニル、1-エチル-2-メチル-c-プロピルカルボニル、2-エチル-1-メチル-c-プロピルカルボニル、2-エチル-2-メチル-c-プロピルカルボニル及び2-エチル-3-メチル-c-プロピルカルボニル等が挙げられる。

#### 【0016】

C 6 - 1 8 アリールカルボニル基としては、ベンゾイル基、1-インデニルカルボニル基、2-インデニルカルボニル基、3-インデニルカルボニル基、4-インデニルカルボニル基、5-インデニルカルボニル基、6-インデニルカルボニル基、7-インデニルカルボニル基、 $\alpha$ -ナフチルカルボニル基、 $\beta$ -ナフチルカルボニル基、1-テトラヒドロナフチルカルボニル基、2-テトラヒドロナフチルカルボニル基、5-テトラヒドロナフチルカルボニル基、6-テトラヒドロナフチルカルボニル基、o-ビフェニリルカルボニル基、m-ビフェニリルカルボニル基、p-ビフェニリルカルボニル基、1-アントリルカルボニル基、2-アントリルカルボニル基、9-アントリルカルボニル基、1-フェナントリルカルボニル基、2-フェナントリルカルボニル基、3-フェナントリルカルボニル基、4-フェナントリルカルボニル基及び9-フェナントリルカルボニル基等が挙げられる。

#### 【0017】

C 6 - 1 8 アリール基としては、フェニル基、1-インデニル基、2-インデニル基、3-インデニル基、4-インデニル基、5-インデニル基、6-インデニル基、7-インデニル基、 $\alpha$ -ナフチル基、 $\beta$ -ナフチル基、1-テトラヒドロナフチル基、2-テトラヒドロナフチル基、5-テトラヒドロナフチル基、6-テトラヒドロナフチル基、o-ビフェニリル基、m-ビフェニリル基、p-ビフェニリル基、1-アントリル基、2-アントリル基、9-アントリル基、1-フェナントリル基

、2-フェナントリル基、3-フェナントリル基、4-フェナントリル基及び9-フェナントリル基等が挙げられる。

【0018】

ハロゲン原子としては、フッ素、塩素、臭素及びヨウ素が挙げられる。

【0019】

C<sub>2</sub>-6アルケニル基としては、直鎖、分枝又は環状のものを含んでいてもよく、エテニル、1-プロペニル、2-プロペニル、1-メチル-1-エテニル、1-ブテニル、2-ブテニル、3-ブテニル、2-メチル-1-プロペニル、2-メチル-2-プロペニル、1-エチルエテニル、1-メチル-1-プロペニル、1-メチル-2-プロペニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、3-ペンテニル、4-ペンテニル、1-n-プロピルエテニル、1-メチル-1-ブテニル、1-メチル-2-ブテニル、1-メチル-3-ブテニル、2-エチル-2-プロペニル、2-メチル-1-ブテニル、2-メチル-2-ブテニル、2-メチル-3-ブテニル、3-メチル-1-ブテニル、3-メチル-2-ブテニル、3-メチル-3-ブテニル、1,1-ジメチル-2-プロペニル、1-i-プロピルエテニル、1,2-ジメチル-1-プロペニル、1,2-ジメチル-2-プロペニル、1-c-ペンテニル、2-c-ペンテニル、3-c-ペンテニル、1-ヘキセニル、2-ヘキセニル、3-ヘキセニル、4-ヘキセニル、5-ヘキセニル、1-メチル-1-ペンテニル、1-メチル-2-ペンテニル、1-メチル-3-ペンテニル、1-メチル-4-ペンテニル、1-n-ブチルエテニル、2-メチル-1-ペンテニル、2-メチル-2-ペンテニル、2-メチル-3-ペンテニル、2-メチル-4-ペンテニル、2-n-プロピル-2-プロペニル、3-メチル-1-ペンテニル、3-メチル-2-ペンテニル、3-メチル-3-ペンテニル、3-メチル-4-ペンテニル、3-エチル-3-ブテニル、4-メチル-1-ペンテニル、4-メチル-2-ペンテニル、4-メチル-3-ペンテニル、4-メチル-4-ペンテニル、1,1-ジメチル-2-ブテニル、1,1-ジメチル-3-ブテニル、1,2-ジメチル-1-ブテニル、1,2-ジメチル-2-ブテニル、1,2-ジメチル-3-ブテニル、1-メチル-2-エチル-2-プロペニル、1-s-ブチルエテニル、1,3-ジメチル-1-ブテニル、1,3-ジメチル-2-ブテニル、1,3-ジメチル-3-ブテニル、1-i-ブチルエテニル、2,2-ジメチル-3-ブテニル、2,3-ジメチル-1-ブテニル、2,3-ジメチル-2-ブテニル、2,3-ジメチル-3-ブテニル、2-i-プロピル-2-プロペニル、3,3-ジメチル-1-ブテニル、1-エチル-1-ブテニル、1-エチル-2-ブテニル、1-エチル-3-ブテニル



、1-n-プロピル-1-プロペニル、1-n-プロピル-2-プロペニル、2-エチル-1-ブテニル、2-エチル-2-ブテニル、2-エチル-3-ブテニル、1,1,2-トリメチル-2-プロペニル、1-t-ブチルエテニル、1-メチル-1-エチル-2-プロペニル、1-エチル-2-メチル-1-プロペニル、1-エチル-2-メチル-2-プロペニル、1-i-プロピル-1-プロペニル、1-i-プロピル-2-プロペニル、1-メチル-2-c-ペンテニル、1-メチル-3-c-ペンテニル、2-メチル-1-c-ペンテニル、2-メチル-2-c-ペンテニル、2-メチル-3-c-ペンテニル、2-メチル-4-c-ペンテニル、2-メチル-5-c-ペンテニル、2-メチレン-c-ペンチル、3-メチル-1-c-ペンテニル、3-メチル-2-c-ペンテニル、3-メチル-3-c-ペンテニル、3-メチル-4-c-ペンテニル、3-メチル-5-c-ペンテニル、3-メチレン-c-ペンチル、1-c-ヘキセニル、2-c-ヘキセニル及び3-c-ヘキセニル等が挙げられる。

#### 【0020】

C1-6アルコキシ基としては、直鎖、分枝又は環状のものを含んでいてもよく、メトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、i-プロポキシ、c-プロポキシ、n-ブトキシ、i-ブトキシ、s-ブトキシ、t-ブトキシ、c-ブトキシ、1-メチル-c-プロポキシ、2-メチル-c-プロポキシ、n-ペンチルオキシ、1-メチル-n-ブトキシ、2-メチル-n-ブトキシ、3-メチル-n-ブトキシ、1,1-ジメチル-n-プロポキシ、1,2-ジメチル-n-プロポキシ、2,2-ジメチル-n-プロポキシ、1-エチル-n-プロポキシ、c-ペンチルオキシ、1-メチル-c-ブトキシ、2-メチル-c-ブトキシ、3-メチル-c-ブトキシ、1,2-ジメチル-c-プロポキシ、2,3-ジメチル-c-プロポキシ、1-エチル-c-プロポキシ、2-エチル-c-プロポキシ、n-ヘキシルオキシ、1-メチル-n-ペンチルオキシ、2-メチル-n-ペンチルオキシ、3-メチル-n-ペンチルオキシ、4-メチル-n-ペンチルオキシ、1,1-ジメチル-n-ブトキシ、1,2-ジメチル-n-ブトキシ、1,3-ジメチル-n-ブトキシ、2,2-ジメチル-n-ブトキシ、2,3-ジメチル-n-ブトキシ、3,3-ジメチル-n-ブトキシ、1-エチル-n-ブトキシ、2-エチル-n-ブトキシ、1,1,2-トリメチル-n-プロポキシ、1,2,2-トリメチル-n-プロポキシ、1-エチル-1-メチル-n-プロポキシ、1-エチル-2-メチル-n-プロポキシ、c-ヘキシルオキシ、1-メチル-c-ペンチルオキシ、2-メチル-c-ペンチルオキシ、3-メチル-c-ペンチルオキシ、1-エチル-c-ブトキシ、2-エチル-c-ブトキシ、3-エチル-c-ブトキシ、1,2

-ジメチル-c-ブトキシ、1,3-ジメチル-c-ブトキシ、2,2-ジメチル-c-ブトキシ、2,3-ジメチル-c-ブトキシ、2,4-ジメチル-c-ブトキシ、3,3-ジメチル-c-ブトキシ、1-n-プロピル-c-プロポキシ、2-n-プロピル-c-プロポキシ、1-i-プロピル-c-プロポキシ、2-i-プロピル-c-プロポキシ、1,2,2-トリメチル-c-プロポキシ、1,2,3-トリメチル-c-プロポキシ、2,2,3-トリメチル-c-プロポキシ、1-エチル-2-メチル-c-プロポキシ、2-エチル-1-メチル-c-プロポキシ、2-エチル-2-メチル-c-プロポキシ及び2-エチル-3-メチル-c-プロポキシ等が挙げられる。

### 【0021】

C<sub>1</sub>-6アルコキシカルボニル基としては、直鎖、分枝又は環状のものを含んでいてもよく、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、n-プロポキシカルボニル、i-プロポキシカルボニル、c-プロポキシカルボニル、n-ブトキシカルボニル、i-ブトキシカルボニル、s-ブトキシカルボニル、t-ブトキシカルボニル、c-ブトキシカルボニル、1-メチル-c-プロポキシカルボニル、2-メチル-c-プロポキシカルボニル、n-ペンチルオキシカルボニル、1-メチル-n-ブトキシカルボニル、2-メチル-n-ブトキシカルボニル、3-メチル-n-ブトキシカルボニル、1,1-ジメチル-n-プロポキシカルボニル、1,2-ジメチル-n-プロポキシカルボニル、2,2-ジメチル-n-プロポキシカルボニル、1-エチル-n-プロポキシカルボニル、c-ペンチルオキシカルボニル、1-メチル-c-ブトキシカルボニル、2-メチル-c-ブトキシカルボニル、3-メチル-c-ブトキシカルボニル、1,2-ジメチル-c-プロポキシカルボニル、2,3-ジメチル-c-プロポキシカルボニル、1-エチル-c-プロポキシカルボニル、2-エチル-c-プロポキシカルボニル、n-ヘキシルオキシカルボニル、1-メチル-n-ペンチルオキシカルボニル、2-メチル-n-ペンチルオキシカルボニル、3-メチル-n-ペンチルオキシカルボニル、4-メチル-n-ペンチルオキシカルボニル、1,1-ジメチル-n-ブトキシカルボニル、1,2-ジメチル-n-ブトキシカルボニル、1,3-ジメチル-n-ブトキシカルボニル、2,2-ジメチル-n-ブトキシカルボニル、2,3-ジメチル-n-ブトキシカルボニル、3,3-ジメチル-n-ブトキシカルボニル、1-エチル-n-ブトキシカルボニル、2-エチル-n-ブトキシカルボニル、1,1,2-トリメチル-n-プロポキシカルボニル、1,2,2-トリメチル-n-プロポキシカルボニル、1-エチル-1-メチル-n-プロポキシカルボニル、1-エチル-2-メチル-n-プロポキシカルボニ

ル、c-ヘキシルオキシカルボニル、1-メチル-c-ペンチルオキシカルボニル、2-メチル-c-ペンチルオキシカルボニル、3-メチル-c-ペンチルオキシカルボニル、1-エチル-c-ブトキシカルボニル、2-エチル-c-ブトキシカルボニル、3-エチル-c-ブトキシカルボニル、1,2-ジメチル-c-ブトキシカルボニル、1,3-ジメチル-c-ブトキシカルボニル、2,2-ジメチル-c-ブトキシカルボニル、2,3-ジメチル-c-ブトキシカルボニル、2,4-ジメチル-c-ブトキシカルボニル、3,3-ジメチル-c-ブトキシカルボニル、1-n-プロピル-c-プロポキシカルボニル、2-n-プロピル-c-プロポキシカルボニル、1-i-プロピル-c-プロポキシカルボニル、2-i-プロピル-c-プロポキシカルボニル、1,2,2-トリメチル-c-プロポキシカルボニル、1,2,3-トリメチル-c-プロポキシカルボニル、2,2,3-トリメチル-c-プロポキシカルボニル、1-エチル-2-メチル-c-プロポキシカルボニル、2-エチル-1-メチル-c-プロポキシカルボニル、2-エチル-2-メチル-c-プロポキシカルボニル及び2-エチル-3-メチル-c-プロポキシカルボニル等が挙げられる。

#### 【0022】

置換基 $R^1$ 及び $R^3$ の好ましい具体例としては、それぞれ独立に、水素原子、メチル基、エチル基、n-ヘキシル基、2-フルオロエチル基、ベンジル基、p-クロロフェニル基、p-メチルフェニル基、エトキシカルボニルメチル基、2-プロペニル基、4-ピリジルメチル基、2-ピリジルメチル基、メチルカルボニル基、ベンゾイル基、2-ジエチルアミノエチル基及び2-(1-ピペリジノ)-エチル基等が挙げられる。

#### 【0023】

置換基 $R^2$ 及び $R^4$ の好ましい具体例としては、それぞれ独立に、水素原子、水酸基及びメトキシ基等が挙げられる。

#### 【0024】

本発明の、好ましい式(1)で表されるトロンボポエチンレセプター活性化剤、トロンボポエチンレセプター活性化作用が有効な疾患の予防・治療・改善薬に用いる好ましい化合物及び血小板増多剤に用いる好ましい化合物としては、以下に示すものが挙げられる。

#### 【0025】

1)  $R^1$ 及び $R^3$ がそれぞれ独立に、水素原子、 $SO_3H$ 、 $C_{1-6}$ アルキル基、 $C_{1-6}$ アルキルカルボニル基又は $C_{6-18}$ アリールカルボニル基（該 $C_{1-6}$ アルキル基、 $C_{1-6}$ アルキルカルボニル基及び $C_{6-18}$ アリールカルボニル基は、水酸基で任意に置換されていてもよい。）である式（1）で表される化合物。

【0026】

2)  $R^1$ 及び $R^3$ がそれぞれ独立に、水素原子、 $SO_3H$ 、 $C_{1-6}$ アルキル基、 $C_{1-6}$ アルキルカルボニル基又は $C_{6-18}$ アリールカルボニル基（該 $C_{1-6}$ アルキル基、 $C_{1-6}$ アルキルカルボニル基及び $C_{6-18}$ アリールカルボニル基は、 $NR^9R^{10}$ （式中、 $R^9$ 及び $R^{10}$ はそれぞれ独立に水素原子若しくは $C_{1-6}$ アルキル基（該 $C_{1-6}$ アルキル基は、 $C_{6-18}$ アリール基で任意に置換されていてもよい。）を意味するか又は $R^9$ 及び $R^{10}$ が一緒になって $-(CH_2)_nX(CH_2)_m-$ （式中、 $X$ は、 $CR^{11}R^{12}$ （式中、 $R^{11}$ 及び $R^{12}$ はそれぞれ独立に水素原子又は $C_{1-6}$ アルキル基（該 $C_{1-6}$ アルキル基は、 $C_{6-18}$ アリール基で任意に置換されていてもよい。）を意味する。））、 $NR^{13}$ （式中、 $R^{13}$ は、水素原子又は $C_{1-6}$ アルキル基（該 $C_{1-6}$ アルキル基は、 $C_{6-18}$ アリール基で任意に置換されていてもよい。）を意味する。））、 $O$ 又は $S$ を意味し、 $n$ は、1、2又は3を意味し、 $m$ は、1、2又は3を意味するが、 $n+m$ は、3、4又は5である。）を意味する。）で任意に置換されていてもよい。）である式（1）で表される化合物。

【0027】

3)  $R^1$ 及び $R^3$ がそれぞれ独立に、水素原子又は $C_{1-6}$ アルキル基である式（1）で表される化合物。

【0028】

4)  $R^1$ 及び $R^3$ がそれぞれ独立に、水素原子又はメチル基であり、 $R^2$ 及び $R^4$ がそれぞれ独立に、水素原子、水酸基又はメトキシ基である3)に記載の化合物。

【0029】

5)  $R^2$ が水素原子である式（1）で表される化合物又は1)、2)、3)若しくは4)に記載の化合物。

【0030】

6)  $R^4$ が水素原子である5)に記載の化合物。

## 【0031】

7)  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ 及び $R^4$ が以下に示す組み合わせである化合物。

$R^1=H$ ,  $R^2=OH$ ,  $R^3=H$ ,  $R^4=OH$

$R^1=CH_3$ ,  $R^2=OCH_3$ ,  $R^3=CH_3$ ,  $R^4=OCH_3$

$R^1=H$ ,  $R^2=OCH_3$ ,  $R^3=H$ ,  $R^4=OCH_3$

$R^1=CH_3$ ,  $R^2=OH$ ,  $R^3=CH_3$ ,  $R^4=OH$

$R^1=H$ ,  $R^2=H$ ,  $R^3=H$ ,  $R^4=OH$

$R^1=CH_3$ ,  $R^2=H$ ,  $R^3=CH_3$ ,  $R^4=OCH_3$

$R^1=CH_3$ ,  $R^2=H$ ,  $R^3=CH_3$ ,  $R^4=OH$

$R^1=H$ ,  $R^2=H$ ,  $R^3=H$ ,  $R^4=H$

$R^1=CH_3$ ,  $R^2=H$ ,  $R^3=CH_3$ ,  $R^4=H$

$R^1=H$ ,  $R^2=H$ ,  $R^3=CH_3$ ,  $R^4=H$

$R^1=CH_3$ ,  $R^2=H$ ,  $R^3=SO_3H$ ,  $R^4=H$

## 【0032】

8)  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ 及び $R^4$ が以下に示す組み合わせである化合物。

$R^1=H$ ,  $R^2=H$ ,  $R^3=H$ ,  $R^4=H$

$R^1=CH_3$ ,  $R^2=H$ ,  $R^3=CH_3$ ,  $R^4=H$

$R^1=H$ ,  $R^2=H$ ,  $R^3=CH_3$ ,  $R^4=H$

$R^1=CH_3$ ,  $R^2=H$ ,  $R^3=SO_3H$ ,  $R^4=H$

## 【0033】

9)  $R^2$ 及び $R^4$ が共に水酸基であるか又は $R^2$ が水酸基で $R^4$ が水素原子であり、 $R^1$ 及び $R^3$ が共に水素原子である式(1)で表される化合物。

## 【0034】

10)  $R^2$ 及び $R^4$ が共に $C_{1-6}$ アルコキシ基であるか又は $R^2$ が $C_{1-6}$ アルコキシ基で $R^4$ が水素原子であり、 $R^1$ 及び $R^3$ が共に $C_{1-6}$ アルキル基である式(1)で表される化合物。

## 【0035】

11)  $R^2$ 及び $R^4$ が共に水素原子であり、 $R^1$ 及び $R^3$ が共に、水素原子、 $SO_3H$ 、 $C_{1-6}$ アルキル基、 $C_{1-6}$ アルキルカルボニル基又は $C_{6-18}$ アリールカルボニル基

(該C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>アルキルカルボニル基及びC<sub>6-18</sub>アリールカルボニル基は、ハロゲン原子、水酸基、C<sub>2-6</sub>アルケニル基、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基、C<sub>1-6</sub>アルコキシカルボニル基、C<sub>6-18</sub>アリール基、2-ピリジル基、3-ピリジル基、4-ピリジル基、2-フラニル基、3-フラニル基、2-チエニル基、3-チエニル基(該C<sub>6-18</sub>アリール基、2-ピリジル基、3-ピリジル基、4-ピリジル基、2-フラニル基、3-フラニル基、2-チエニル基及び3-チエニル基は、ハロゲン原子又はC<sub>1-6</sub>アルキル基で任意に置換されていてもよい。)又はNR<sup>9</sup>R<sup>10</sup>(式中、R<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>はそれぞれ独立に水素原子若しくはC<sub>1-6</sub>アルキル基(該C<sub>1-6</sub>アルキル基は、C<sub>6-18</sub>アリール基で任意に置換されていてもよい。))を意味するか又はR<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>が一緒になって-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>X(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(式中、Xは、CR<sup>11</sup>R<sup>12</sup>(式中、R<sup>11</sup>及びR<sup>12</sup>はそれぞれ独立に水素原子又はC<sub>1-6</sub>アルキル基(該C<sub>1-6</sub>アルキル基は、C<sub>6-18</sub>アリール基で任意に置換されていてもよい。))を意味する。))、NR<sup>13</sup>(式中、R<sup>13</sup>は、水素原子又はC<sub>1-6</sub>アルキル基(該C<sub>1-6</sub>アルキル基は、C<sub>6-18</sub>アリール基で任意に置換されていてもよい。))を意味する。))、O又はSを意味し、nは、1、2又は3を意味し、mは、1、2又は3を意味するが、n+mは、3、4又は5である。)を意味する。)で任意に置換されていてもよい。)である式(1)で表される化合物。

### 【0036】

12) R<sup>2</sup>及びR<sup>4</sup>が共に水素原子であり、R<sup>1</sup>がメチル基であり、R<sup>3</sup>が、水素原子、SO<sub>3</sub>H、C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>アルキルカルボニル基又はC<sub>6-18</sub>アリールカルボニル基(該C<sub>1-6</sub>アルキル基、C<sub>1-6</sub>アルキルカルボニル基及びC<sub>6-18</sub>アリールカルボニル基は、ハロゲン原子、水酸基、C<sub>2-6</sub>アルケニル基、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基、C<sub>1-6</sub>アルコキシカルボニル基、C<sub>6-18</sub>アリール基、2-ピリジル基、3-ピリジル基、4-ピリジル基、2-フラニル基、3-フラニル基、2-チエニル基、3-チエニル基(該C<sub>6-18</sub>アリール基、2-ピリジル基、3-ピリジル基、4-ピリジル基、2-フラニル基、3-フラニル基、2-チエニル基及び3-チエニル基は、ハロゲン原子又はC<sub>1-6</sub>アルキル基で任意に置換されていてもよい。))又はNR<sup>9</sup>R<sup>10</sup>(式中、R<sup>9</sup>及びR<sup>10</sup>はそれぞれ独立に水素原子若しくはC<sub>1-6</sub>アルキル基(該C<sub>1-6</sub>アルキル基は、C<sub>6-18</sub>アリール基で任意に置換されてい

てもよい。)を意味するか又は $R^9$ 及び $R^{10}$ が一緒になって $-(CH_2)_nX(CH_2)_m-$  (式中、 $X$ は、 $CR^{11}R^{12}$  (式中、 $R^{11}$ 及び $R^{12}$ はそれぞれ独立に水素原子又は $C_{1-6}$ アルキル基 (該 $C_{1-6}$ アルキル基は、 $C_{6-18}$ アリール基で任意に置換されていてもよい。)を意味する。)、 $NR^{13}$  (式中、 $R^{13}$ は、水素原子又は $C_{1-6}$ アルキル基 (該 $C_{1-6}$ アルキル基は、 $C_{6-18}$ アリール基で任意に置換されていてもよい。)を意味する。)、 $O$ 又は $S$ を意味し、 $n$ は、1、2又は3を意味し、 $m$ は、1、2又は3を意味するが、 $n+m$ は、3、4又は5である。)を意味する。)で任意に置換されていてもよい。)である式(1)で表される化合物。

## 【0037】

好ましい式(2)で表される化合物としては以下に示すものが挙げられる。

## 【0038】

13)  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ 及び $R^8$ が以下に示す組み合わせである化合物。

$R^5=H$ ,  $R^6=OH$ ,  $R^7=H$ ,  $R^8=OH$

$R^5=CH_3$ ,  $R^6=OCH_3$ ,  $R^7=CH_3$ ,  $R^8=OCH_3$

$R^5=H$ ,  $R^6=OCH_3$ ,  $R^7=H$ ,  $R^8=OCH_3$

$R^5=CH_3$ ,  $R^6=OH$ ,  $R^7=CH_3$ ,  $R^8=OH$

$R^5=H$ ,  $R^6=H$ ,  $R^7=H$ ,  $R^8=OH$

$R^5=CH_3$ ,  $R^6=H$ ,  $R^7=CH_3$ ,  $R^8=OCH_3$

$R^5=CH_3$ ,  $R^6=H$ ,  $R^7=CH_3$ ,  $R^8=OH$

$R^5=H$ ,  $R^6=H$ ,  $R^7=H$ ,  $R^8=H$

$R^5=CH_3$ ,  $R^6=H$ ,  $R^7=CH_3$ ,  $R^8=H$

$R^5=H$ ,  $R^6=H$ ,  $R^7=CH_3$ ,  $R^8=H$

## 【0039】

14)  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ 及び $R^8$ が以下に示す組み合わせである化合物。

$R^5=H$ ,  $R^6=H$ ,  $R^7=H$ ,  $R^8=H$

$R^5=CH_3$ ,  $R^6=H$ ,  $R^7=CH_3$ ,  $R^8=H$

$R^5=H$ ,  $R^6=H$ ,  $R^7=CH_3$ ,  $R^8=H$

## 【0040】

15)  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ 及び $R^8$ が以下に示す組み合わせである化合物。

$R^5 = CH_3, R^6 = H, R^7 = CH_3, R^8 = H$  $R^5 = H, R^6 = H, R^7 = CH_3, R^8 = H$ 

## 【0041】

本発明の式(1)で示される化合物またはその製薬上許容される塩は製造条件により任意の結晶形として存在することができ、任意の水和物として存在することができるが、これら結晶形や水和物およびそれらの混合物も本発明の範囲に含有される。またアセトン、エタノール、テトラヒドロフランなどの有機溶媒を含む溶媒和物として存在することもあるが、これらの形態はいずれも本発明の範囲に含有される。

## 【0042】

本発明の式(1)で示される化合物は、必要に応じて製薬上許容される塩に変換することも、または生成した塩から遊離させることもできる。本発明の製薬上許容される塩としては、例えば、アルカリ金属(リチウム、ナトリウム、カリウムなど)、アルカリ土類金属(マグネシウム、カルシウムなど)、アンモニウム、有機塩基及びアミノ酸との塩などが挙げられる。また無機酸(塩酸、臭化水素酸、リン酸、硫酸など)及び有機酸(酢酸、クエン酸、マレイン酸、フマル酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸など)との塩も可能である。

## 【0043】

プロドラッグとしては、化学的または代謝的に分解できる基を有する本発明の誘導体であり、加溶媒分解によりまたは生理的条件下のインビボにおいて薬理的に活性な本発明を形成する化合物となる化合物である。適当なプロドラッグ誘導体を選択する方法および製造する方法は、例えば Design of Prodrug(Elsevier, Amsterdam 1985)に記載されている。本発明の場合、水酸基を有する場合は、その化合物と適当なアシルハライドまたは適当な酸無水物とを反応させることによって製造されるアシルオキシ誘導体のようなプロドラッグが例示される。プロドラッグとして特に好ましいアシルオキシとしては  $-OCOC_2H_5$ ,  $-OCO(t-Bu)$ ,  $-OCOC_{15}H_{31}$ ,  $-OCO(m-CO_2Na-Ph)$ ,  $-OCOCH_2CH_2CO_2Na$ ,  $-OCOCH(NH_2)CH_3$ ,  $-OCOCH_2N(CH_3)_2$  などがあげられる。本発明を形成する化合物がアミノ基を有する場合は、アミノ基を有する化合物と適当な酸ハロゲン化物または適当な混合酸無水物とを反応



させることにより製造されるアミド誘導体のようなプロドラッグが例示される。プロドラッグとして特に好ましいアミドとしては、 $\text{-NHCO(CH}_2\text{)}_{20}\text{OCH}_3$ ,  $\text{-NHCOCH(NH}_2\text{)CH}_3$  等があげられる。

#### 【0044】

本発明のトロンボポエチンレセプター活性化剤、そのプロドラッグ、若しくは製薬上許容される塩又はそれらの溶媒和物を有効成分とする医薬は、通常錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、丸剤、シロップ剤などの経口投与剤、直腸投与剤、経皮吸収剤あるいは注射剤として投与できる。本剤は1個の治療剤として、あるいはほかの治療剤との混合物として投与できる。それらは単体で投与してもよいが、一般的には医薬組成物の形態で投与する。それらの製剤は、薬理的、製剤学的に許容しうる添加物を加え、常法により製造することができる。すなわち、経口剤には通常の賦形剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤、湿潤剤、可塑剤、コーティング剤などの添加物を使用することができる。経口用液剤は、水性または油性懸濁液、溶液、乳濁液、シロップ、エリキシルなどの形態であってもよく、あるいは使用前に水またはほかの適当な溶媒で調製するドライシロップとして供されてもよい。前記の液剤は、懸濁化剤、香料、希釈剤あるいは乳化剤のような通常の添加剤を含むことができる。直腸内投与する場合は座剤として投与することができる。坐剤はカカオ脂、ラウリン脂、マクロゴール、グリセロゼラチン、ウイテップゾール、ステアリン酸ナトリウムまたはそれらの混合物など、適当な物質を基剤として、必要に応じて乳化剤、懸濁化剤、保存剤などを加えることができる。注射剤は、水性あるいは用時溶解型剤形を構成しうる注射用蒸留水、生理食塩水、5%ブドウ糖溶液、プロピレングリコールなどの溶解剤ないし溶解補助剤、pH調節剤、等張化剤、安定化剤などの製剤成分が使用される。

#### 【0045】

本発明の薬剤をヒトに投与する場合は、その投与量を患者の年齢、状態により決定するが通常成人の場合、経口剤あるいは直腸内投与では0.1~1000mg/ヒト/日程度、注射剤で0.05mg~500mg/ヒト/日程度である。これらの数値はあくまでも例示であり、投与量は患者の症状にあわせて投与されるものである。

## 【0046】

本発明を使用する場面としては、トロンボポエチンレセプター親和性及びアゴニスト活性を有する化合物を使用することにより病態の改善が期待できる場面が挙げられる。具体的には、血小板数の異常を伴う血液疾患があげられる。より詳細には巨核球による造血過程の異常に起因するヒトを含む哺乳類の疾患、とりわけ血小板減少を伴う疾患の治療や予防に有用である。このような疾患としてはたとえば、癌化学療法及びまたは癌放射線療法に伴う血小板減少、骨髄移植、手術、及び重症感染症による血小板減少、あるいは消化管出血等をあげることができるが、これらに限定されることはない。血小板減少を伴う代表的な疾患である再生不良性貧血や突発性血小板性紫斑病、骨髄異形成症候群、トロンボポエチン欠損症なども本発明の医薬適用対象である。また、本発明は末梢血幹細胞放出促進剤、巨核球性白血病細胞の分化誘導剤、血小板ドナーの血小板増加剤などとして使用することもできる。またこの他、血管内皮および内皮前駆細胞の分化増殖により、血管新生療法に用いたり、動脈硬化症、心筋梗塞、不安定狭心症、末梢動脈閉塞症などを予防・治療する場面が想定されるが、これらに限定されることはない。

## 【0047】

次に、式(2)で表される化合物の製造方法について説明する。

## 【0048】

式(2)で表される化合物は、バシペトスポラ (Basipetospora) 属に属する微生物を培養し、その培養液から採取することにより、製造することができる。

## 【0049】

本発明に用いられるバシペトスポラ (Basipetospora) 属に属する微生物としては、微生物の菌株に変異を生じさせて一層生産性を向上させた菌株等の変異株、また、菌株の細胞中に存在する、本反応に関与する遺伝子を切り出し、これを適切なベクター例えばプラスミドに挿入し、このベクターを用いて適当な異種宿主もしくは同種宿主を形質転換することによる菌株等も含まれる。

## 【0050】

バシペトスポラ (Basipetospora) 属に属する微生物の好ましい例としては、

バシペトスポラ・エスピー (Basipetospora sp.) が挙げられ、更に好ましくは、バシペトスポラ・エスピー (Basipetospora sp.) No. 1142 株が挙げられる。

#### 【0051】

バシペトスポラ・エスピー (Basipetospora sp.) No. 1142 株の菌学的性質は以下の通りである、

#### 【0052】

##### 1. 各種培地における生育状態

25℃、7日間培養時の生育

オートミール寒天培地 +

麦芽エキスを寒天培地 +

ポテトデキストロース寒天培地 +

37℃での生育 -

可溶性色素及び滲出液の産生 -

コロニーの形態: 直径37~42cm、白色羊毛状、平滑、裏面白色

#### 【0053】

##### 2. 顕微鏡下における形態的特徴

菌糸: 幅1~5 $\mu$ m、無色、平滑分岐、隔壁有

分生子柄: 直立、単生

分生子形成細胞: 直線状、先端での環紋無し

分生子: 鎖状連結、単細胞、球形~亜球形、表面粗面、直径7~12 $\mu$ m

#### 【0054】

以上の諸性状に基づき既知菌種との比較を試みた結果、No. 1142 株をバシペトスポラ (Basipetospora) 属に属する一菌株と同定し、バシペトスポラ・エスピー No. 1142 株と命名した。本菌株は独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センターにバシペトスポラ・エスピー No. 1142 株の表示で14産生寄 第990号 (FERM P-18940) として寄託されている。

## 【0055】

バシペトスポラ・エスピー (Basipetospora sp.) No. 1142株は、他の糸状菌に見られるようにその性状が変化しやすい。例えば、No. 1142株の、又は本菌株に由来する突然変異体（自然発生又は誘発性）、形質接合体又は遺伝子組み換え体であっても、キサントシリンXモノメチルエーテル ( $R^5 = H$ ,  $R^6 = H$ ,  $R^7 = CH_3$ ,  $R^8 = H$ である化合物) とキサントシリンXジメチルエーテル ( $R^5 = CH_3$ ,  $R^6 = H$ ,  $R^7 = CH_3$ ,  $R^8 = H$ である化合物) を生産するものは全て本発明に使用できる。

## 【0056】

バシペトスポラ (Basipetospora) 属に属する微生物の培養方法について説明する。

## 【0057】

本発明により式(2)で表される化合物を製造するには、まずバシペトスポラ (Basipetospora) 属に属する微生物を培地中で培養する。栄養源としては、従来糸状菌の培養に利用されている公知のものが使用できる。例えば、炭素源としては、グルコース、スクロース、水飴、澱粉、デキストリン、大豆油等を使用する。また、窒素源としては、ペプトン、肉エキス、酵母エキス、コーン・ステープ・リカー、オートミール、硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、硝酸アンモニウム、尿素等を使用できる。その他必要に応じて食塩、硫酸マグネシウム、硫酸銅、硫酸亜鉛、塩化マンガン、炭酸カルシウム、磷酸塩等の無機塩を単独又は組み合わせて加えることができるほか、本菌株の生育や、式(2)で表される化合物の生産を促進する有機物、例えば核酸類、ビタミン類や無機物を適当に添加することができる。なお、培養中の発泡が著しい時には、消泡剤等を適宜添加すればよい。

## 【0058】

培養法としては、例えば振とう又は通気攪拌培養などの好氣的条件下での培養法が最も適している。培養温度は20～28℃、培地のpHは5.0～8.0に調製することが好ましい。培養時間は通常8～16日間培養を行うと、式(2)で表される化合物が培地或いは菌体中に蓄積されるので、培養中の蓄積量が最大

に達した時点で培養を終了するのが好ましい。なお、これらの培養条件は使用する生産菌の特性又は培養方法に応じてそれぞれ最適の条件を選択すればよい。

#### 【0059】

式(2)で表される化合物の分離・精製方法について説明する。

#### 【0060】

培養終了後、培養液から式(2)で表される化合物を採取するためには一般に微生物代謝産物をその培養物から単離するために用いられる分離、精製の方法が利用される。すなわち、減圧濃縮、凍結乾燥、例えばブタノール、酢酸エチル、クロロホルム、ベンゼン等を用いた有機溶媒抽出、各種のイオン交換クロマトグラフィー、セファデックスLH-20等を用いたゲル濾過クロマトグラフィー、活性炭、シリカゲル等による吸着クロマトグラフィーもしくは薄層クロマトグラフィーによる活性物質の吸脱着処理、あるいは逆相カラムを用いた高速液体クロマトグラフィー等を単独あるいは任意の順序に組み合わせ、また反復して用いることにより、式(2)で表される化合物を単離そして採取することができる。かくして得られた式(2)で表される化合物のうち、幾つか化合物の理化学的性質につき以下に示した。

#### 【0061】

キサントシリンXモノメチルエーテル ( $R^5 = H$ ,  $R^6 = H$ ,  $R^7 = CH_3$ ,  $R^8 = H$ である化合物)

1. 分子量: 302
2. 組成式:  $C_{19}H_{14}N_2O_2$
3. 性状、色: 黄色針状結晶の中性物質
4.  $^1H$ 核磁気共鳴スペクトル: 重クロロホルム中で測定した水素核磁気共鳴スペクトルの化学シフト ( $\delta$ -値) を以下に示す。  
 $\delta$  (ppm): 7.79 (2H, d), 7.72 (2H, d), 7.02 (2H, d), 7.01 (1H, s), 6.87 (1H, s), 6.86 (2H, d), 3.85 (3H, s)
5.  $^{13}C$ 核磁気共鳴スペクトル: 重クロロホルム中で測定した炭素核磁気共鳴スペクトルの化学シフト ( $\delta$ -値) を以下に示す。

$\delta$  (ppm) : 48.0, 114.1, 115.2, 115.6, 116.1, 123.6, 126.9, 127.7, 131.4, 131.7, 159.8, 161.4, 173.4, 173.5

6. マススペクトル: (EI-MS)  $m/z = 302$  ( $M^+$ )

【0062】

キサントシリンXジメチルエーテル ( $R^5 = CH_3$ ,  $R^6 = H$ ,  $R^7 = CH_3$ ,  $R^8 = H$ である化合物)

1. 分子量: 316

2. 組成式:  $C_{20}H_{16}N_2O_2$

3. 性状、色: 黄色針状結晶の中性物質

4.  $^1H$ 核磁気共鳴スペクトル: 重クロロホルム中で測定した水素核磁気共鳴スペクトルの化学シフト ( $\delta$ -値) を以下に示す。

$\delta$  (ppm) : 7.79 (4H, d), 7.02 (2H, d), 6.98 (4H, d), 3.87 (6H, s)

5.  $^{13}C$ 核磁気共鳴スペクトル: 重クロロホルム中で測定した炭素核磁気共鳴スペクトルの化学シフト ( $\delta$ -値) を以下に示す。

$\delta$  (ppm) : 55.5, 114.5, 116.3, 124.9, 127.5, 131.8, 161.2, 173.3

6. マススペクトル: (EI-MS)  $m/z = 316$  ( $M^+$ )

【0063】

次に、本発明に使用される、式(1)で表される化合物の製造方法について説明する。

【0064】

式(1)で表される化合物は、微生物を利用する製造法、微生物を利用して得られた化合物を化学修飾する製造法及び化学的な合成による製造法により製造することができる。

【0065】

微生物を利用する製造法により、式(1)で表される化合物のうち以下に示す化合物を製造することができる。

## 【0066】

$R^1 = H$ 、 $R^2 = H$ 、 $R^3 = H$ 、 $R^4 = H$ である化合物（キサントシリンX）は、*Penicillium notatum*や*Penicillium Chrysogenum*等の微生物を用いることにより製造することができる（GB 898498、Antibiotics Ann (1957) Volume Date 1956-57 140-3p及びDE 1123087等）。

## 【0067】

$R^1 = H$ 、 $R^2 = H$ 、 $R^3 = CH_3$ 、 $R^4 = H$ である化合物（キサントシリンXモノメチルエーテル）は、*Dichotomomyces albus*等の微生物を用いることにより製造することができる（J.Antibiotics 21, 582-587 (1968)、J.Antibiotics 21 587-591 (1968)）。

## 【0068】

$R^1 = CH_3$ 、 $R^2 = H$ 、 $R^3 = CH_3$ 、 $R^4 = H$ である化合物（キサントシリンXジメチルエーテル）及び $R^1 = C_2H_5$ 、 $R^2 = H$ 、 $R^3 = C_2H_5$ 、 $R^4 = H$ である化合物（キサントシリンXジエチルエーテル）は、*Aspergillus* sp. (Strain No.208またはNo.98)等の微生物を用いることにより製造することができる（J.Antibiotics 21(12)671-679(1968)）。

## 【0069】

$R^1 = H$ 、 $R^2 = OH$ 、 $R^3 = H$ 、 $R^4 = H$ である化合物（キサントシリンY1）及び $R^1 = H$ 、 $R^2 = OH$ 、 $R^3 = H$ 、 $R^4 = OH$ である化合物（キサントシリンY2）は、*Penicillium notatum*等の微生物を用いることにより製造することができる（Chem. Ber 105(9), 3061 (1972)）。

## 【0070】

$R^1 = CH_3$ 、 $R^2 = H$ 、 $R^3 = SO_3H$ 、 $R^4 = H$ である化合物（キサントシリンXモノメチルエーテル硫酸エステル）は*Aspergillus* sp. (No.FA2692)等の微生物を用いることにより製造することができる（J.Antibiotics 46 687-688(1993)）。

## 【0071】

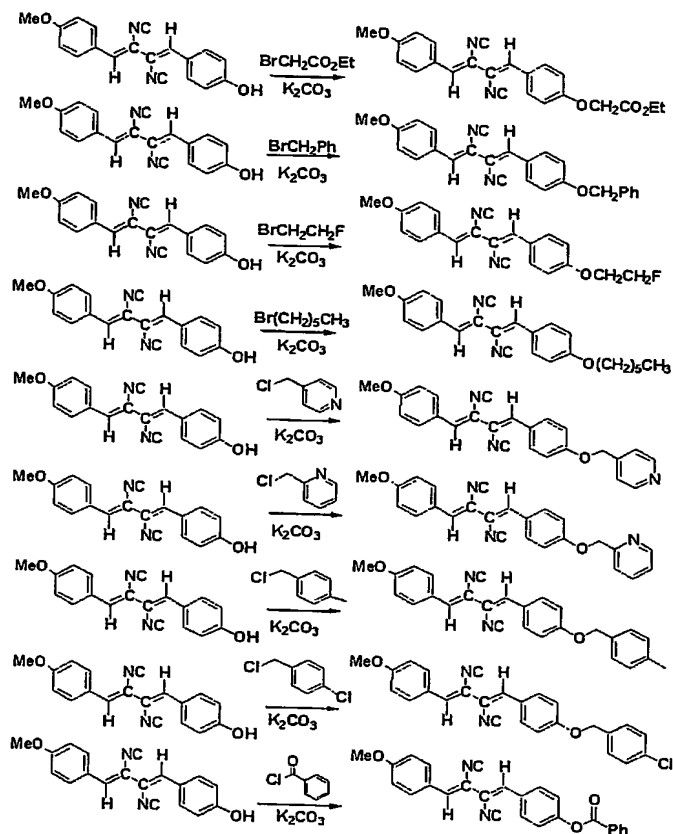
微生物を利用して得られた化合物を化学修飾する製造法により、式（1）で表される化合物のうち以下に示す化合物を製造することができる。

## 【0072】

$R^1 = \text{CH}_3$ ,  $R^2 = \text{H}$ ,  $R^4 = \text{H}$ ,  $R^3$ がアルキル基、アルキルカルボニル基又はアリールカルボニル基である化合物は、キサントシリンXモノメチルエーテルを原料として、特開平2-304058号公報記載の方法に従って製造することができる。

## 【0073】

## 【化5】



## 【0074】

即ち、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>等の塩基の存在下、対応するハライド等をキサントシリンXモノメチルエーテルに反応させることにより製造することができる。

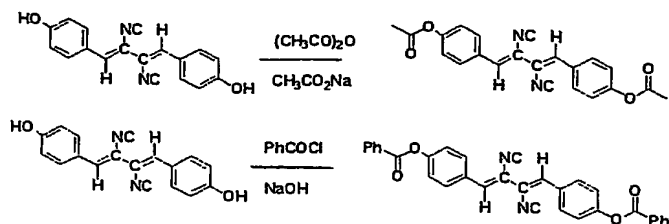
## 【0075】

$R^2 = \text{H}$ ,  $R^4 = \text{H}$ ,  $R^1$ 及び $R^3$ がアルキルカルボニル基又はアリールカルボニル基である化合物は、キサントシリンXを原料として、Pharmazie 12, 567-580 (1957)記載の方法に従って製造することができる。

## 【0076】



## 【化6】



## 【0077】

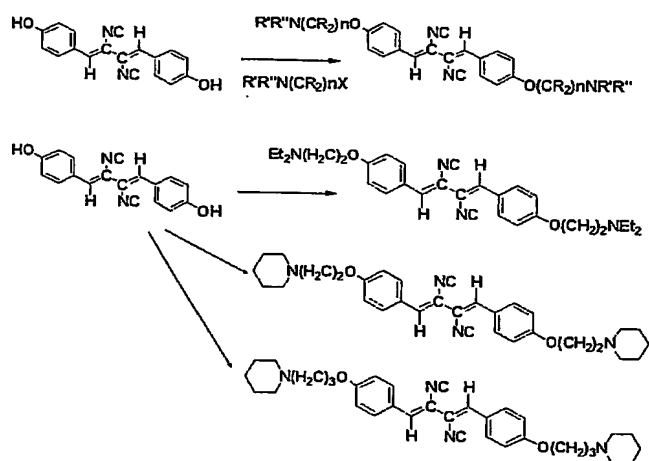
即ち、適当な塩基の存在下、対応する酸無水物又はアシルハライド等をキサントシリンXに反応させることにより製造することができる。

## 【0078】

$R^2 = H$ 、 $R^4 = H$ 、 $R^1$ 及び $R^3$ がジアルキルアミノ基で置換されたアルキル基である化合物は、キサントシリンXを原料として、DE 11658記載の方法に従って製造することができる。

## 【0079】

## 【化7】



## 【0080】

即ち、対応するハライド等をキサントシリンXに反応させることにより製造することができる。

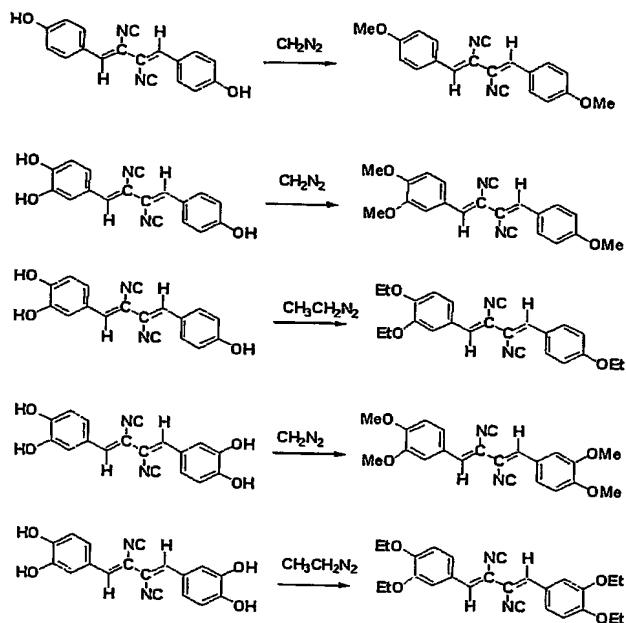
## 【0081】

$R^2 = H$ 、 $R^4 = H$ 、 $R^1$ 及び $R^3$ がアルキル基である化合物、 $R^2$ がアルコキシ基

、 $R^4 = H$ 、 $R^1$ 及び $R^3$ がアルキル基である化合物及び $R^2$ 及び $R^4$ がアルコキシ基、 $R^1$ 及び $R^3$ がアルキル基である化合物は、それぞれ、キサントシリンX、キサントシリンY 1 及びキサントシリンY 2 を原料として、Chem Ber 105(9) 3061 (1972) 記載の方法に従って製造することができる。

## 【0082】

## 【化8】



## 【0083】

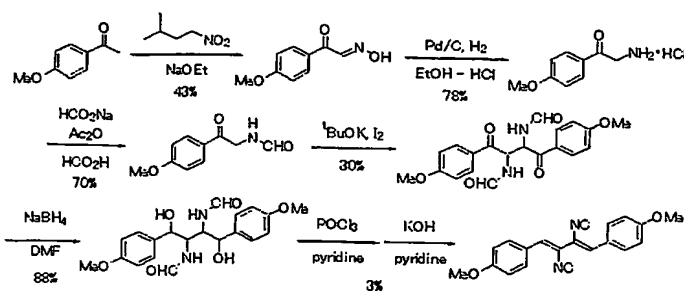
即ち、対応するジアゾアルキルをキサントシリンX、キサントシリンY 1 及びキサントシリンY 2 にそれぞれ反応させることにより製造することができる。

## 【0084】

化学的な合成による製造法により、式(1)で表される化合物のうち、 $R^1 = CH_3$ 、 $R^2 = H$ 、 $R^3 = CH_3$ 、 $R^4 = H$ である化合物(キサントシリンXジメチルエーテル)を製造することもできる(Angew Chem 74, 215 (1962)、Chem Ber 98(1) 193-201 (1965)及びDE 1167332)。

## 【0085】

## 【化9】



## 【0086】

## 【実施例】

以下に実施例を示し本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

## 【0087】

## 製造例 1

500ml容三角フラスコに液体培地（組成；可溶性でんぷん2%、グルコース0.5%、ポリペプトン0.2%、コーンスチープリカー0.5%、）100mlを分注し、120℃、20分間オートクレーブ殺菌した。これにバシペトスポラ属菌株No. 1142の1白金耳を接種し、25℃、140回転/分で4日間旋回培養を行った。ここで得られた培養液を、上記培地と同一組成の培地1リットルを分注した5リットル容三角フラスコ（18本、オートクレーブ殺菌済）に移植し、25℃、140回転/分で7日間旋回培養を行った。培養終了後、得られた培養液を濾過し、濾液と菌体を得た。

## 【0088】

この培養菌体を80%アセトン水5リットルで1晩抽出し、菌体を濾過により除いた後、菌体溶出液とした。この菌体溶出液を減圧濃縮により溶媒除去し、ヘキサン0.5リットル添加後得られた水層についてさらに酢酸エチル0.5リットルにて3回抽出し、酢酸エチル層を減圧濃縮して褐色の油状物質約771mgを得た。これについてクロロホルム-メタノール（100：0～5）を展開溶媒とするシリカゲルクロマトグラフィー（2.5×28cm）を行い、各画分を濃縮乾固し、キサントシリンXモノメチルエーテルを含む黄色の活性画分A（約3

3 mg) 及びトキサントシリンXジメチルエーテルを含む黄色の活性画分B (約 37 mg) を得た。

#### 【0089】

引き続き活性画分Bについては、クロロホルム-ヘキサン溶媒による結晶化を行い、黄色針状結晶物質キサントシリンXジメチルエーテルを得た (約 30 mg)。また活性画分Aについては、ヘキサン-アセトン (3:1~3) を展開溶媒とするシリカゲルクロマトグラフィー (2.5×28 cm) を行い、各画分を濃縮乾固し、キサントシリンXモノメチルエーテルを含む活性画分 (約 11 mg) を得た。さらに本画分について、クロロホルム-ヘキサン溶媒による結晶化を行い、黄色針状結晶物質キサントシリンXモノメチルエーテルを得た (約 10 mg)。

かくして得られた化合物は、以下の理化学的性質を示す。

#### 【0090】

- 1) 得られたキサントシリンXモノチルエーテルの理化学的性質:
  1. 分子量: 302
  2. 組成式:  $C_{19}H_{14}N_2O_2$
  3. 性状、色: 黄色針状結晶の中性物質
  4.  $^1H$ 核磁気共鳴スペクトル: 重クロロホルム中で測定した水素核磁気共鳴スペクトルの化学シフト ( $\delta$ -値) を以下に示す。  
 $\delta$  (ppm): 7.79 (2H, d), 7.72 (2H, d), 7.02 (2H, d), 7.01 (1H, s), 6.87 (1H, s), 6.86 (2H, d), 3.85 (3H, s)
  5.  $^{13}C$ 核磁気共鳴スペクトル: 重クロロホルム中で測定した炭素核磁気共鳴の化学シフト ( $\delta$ -値) を以下に示す。  
 $\delta$  (ppm): 48.0, 114.1, 115.2, 115.6, 116.1, 123.6, 126.9, 127.7, 131.4, 131.7, 159.8, 161.4, 173.4, 173.5
  6. マススペクトル: (EI-MS)  $m/z = 302$  ( $M^+$ )

#### 【0091】

2) 得られたキサントシリンXジメチルエーテルの理化学的性質:

1. 分子量: 316
2. 組成式:  $C_{20}H_{16}N_2O_2$
3. 性状、色: 黄色針状結晶の中性物質
4.  $^1H$ 核磁気共鳴スペクトル: 重クロロホルム中で測定した水素核磁気共鳴の化学シフト ( $\delta$ -値) を以下に示す。  
 $\delta$  (ppm): 7.79 (4H, d), 7.02 (2H, d), 6.98 (4H, d), 3.87 (6H, s)
5.  $^{13}C$ 核磁気共鳴スペクトル: 重クロロホルム中で測定した炭素核磁気共鳴の化学シフト ( $\delta$ -値) を以下に示す。  
 $\delta$  (ppm): 55.5, 114.5, 116.3, 124.9, 127.5, 131.8, 161.2, 173.3
6. マススペクトル: (EI-MS)  $m/z = 316$  ( $M^+$ )

【0092】

試験例1 トロンボポエチン (TPO) 依存性細胞株の増殖促進活性

【0093】

(1) 細胞及び培養

本発明化合物であるキサントシリンXモノメチルエーテルのトロンボポエチン (TPO) レセプター応答性を、ヒト白血病細胞株UT7/EPO-mplを用いて測定した。細胞株UT7/EPO-mplは小松らの方法 (J. Biol. Chem, 272: 7259-7263 (1997)) により、cytomegalovirusプロモーター制御下にてヒトトロンボポエチンレセプター (c-mpl) 発現を誘導するベクターをヒト白血病細胞株UT7/EPO に導入した安定形質転換細胞株であり、トロンボポエチンに応答して増殖反応を示す。なお、その親株であるUT7/EPO細胞はトロンボポエチンに応答性を示さない。上記2種の細胞は10%牛血清 (TRACE SCIENTIFIC) を含むIMDM培地 (GIBCO) 中で、CO<sub>2</sub> インキュベーター (5%CO<sub>2</sub>、37℃) を用いて継代培養した。

【0094】

(2) MTT法による細胞増殖の測定

上記継代培養細胞をPBSで2回洗浄後、細胞濃度が $6 \times 10^4$ 個/mlとなるように10%牛血清を含むIMDM培地に懸濁し、この懸濁液 $100 \mu\text{l}$ を組織培養用96穴プレート (CORNING) に移した。さらに、別途DMSO中に溶解したキサントシリンXモノメチルエーテルを10%牛血清を含むIMDM培地にて100倍希釈した後、上記細胞懸濁液に $20 \mu\text{l}$ ずつ添加した。引き続き、本細胞懸濁液をCO<sub>2</sub>インキュベーター (5%CO<sub>2</sub>、37℃) 中にて4日間培養した。細胞増殖はモスマンらの方法 (J. Immunological Methods, 65: 55-63 (1983)) に準じて測定した。すなわち、各穴に $10 \mu\text{l}$ の5mg/ml MTT試薬 (SIGMA) を添加し、37℃にて4時間加温した。生成したホルマザン色素を各穴当たり $150 \mu\text{l}$ のイソプロパノール/0.1N-HCl溶液にて溶解した後、96穴マイクロプレートリーダー (BIO-RAD、M450) を用いて550nmの吸光度を測定した。UT7/EP0-mpl細胞を用いた時の結果を図1に示した。また、トロンボポエチンレセプターが発現していないUT7/EP0細胞を用いた時の結果を図2に示した。

#### 【0095】

##### 試験例2 トロンボポエチンレセプターシグナル伝達活性

本発明化合物であるキサントシリンXモノメチルエーテルのトロンボポエチンレセプターシグナル伝達活性を、小松らの方法 (Blood, 87: 4552-4560 (1996)) に準じて測定した。ヒト白血病細胞株UT7/EP0-mplをPBSで3回洗浄後、細胞濃度が $9 \times 10^5$ 個/mlとなるように10%牛血清 (TRACE SCIENTIFIC) を含むIMDM培地 (GIBCO) に懸濁し、CO<sub>2</sub>インキュベーター (5%CO<sub>2</sub>、37℃) 中にて18時間培養した。本細胞懸濁液2ml ( $7 \times 10^6$ 個/ml) に終濃度30ng/mlのトロンボポエチンあるいは別途DMSO中に溶解した終濃度 $1 \mu\text{g/ml}$ のキサントシリンXモノメチルエーテルを添加し、37℃にて1~15分加温した後、細胞を1.4mlのTNEバッファー [20mM Tris-HCl (pH7.4), 150mM NaCl, 1mM EDTA, 1% Triton X-100, 1mM PMSF, 1mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 1/400希釈 Protease inhibitor cocktail (SIGMA)] にて溶解した。溶解液を遠心後、上清を各種シグナル伝達に関与する蛋白質に対する抗体 [anti-Jak2 (UPSTATE BIOTECHNOLOGY)、anti-Tyk2 (UPSTATE BIOTECHNOLOGY)、anti-STAT3 (SANTA CRUZ

BIOTECHNOLOGY)、anti-STAT5A (UPSTATE BIOTECHNOLOGY)、anti-PLC $\gamma$ 1 (UPSTATE BIOTECHNOLOGY) ] 及びプロテインGセファロース (PHARMACIA) を用いて免疫沈降した。引き続き蛋白質をサンプルバッファーにて変性し、SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動 (7.5%) にて分離した。これを100V、1時間の条件にてPVDF膜 (ATTO、0.2  $\mu$ m) に転写し、アルカリフォスファターゼを標識した抗リン酸化チロシン抗体 (RC20、TRANSDUCTION LABORATORIES) を用いてチロシンリン酸化された蛋白質を検出した。発色には150  $\mu$ g/mlのNBT (BIO-RAD) 及び300  $\mu$ g/mlのBCIP (BIO-RAD) を用いた。その結果を表1に示す。

表1

【0096】

【表1】

	DMSO	キサントシリンXモノメチルエーテル	トロンボポエチン
Jak2	—	+	+
Tyk2	—	+	+
STAT3	—	+	+
STAT5A	—	+	+
PLC $\gamma$ 1	—	+	+

【0097】

図1に示したように、トロンボポエチン応答性細胞株UT7/EP0-mplの増殖はキサントシリンXモノメチルエーテルの添加により濃度依存的に促進された。図2に示したように、本化合物は上記細胞の親株であるUT7/EP0の増殖には影響を及ぼさなかった。以上の結果より、本発明化合物であるキサントシリンXモノメチルエーテルはトロンボポエチンレセプターに特異的に作用し、その活性化剤として働くことが明らかとなった。

【0098】

表1に示したように、キサントシリンXモノメチルエーテルの刺激によりJak2、Tyk2、STAT3、STAT5A及びPLC $\gamma$  1のリン酸化が促進されることが明らかとなった。このリン酸化促進はトロンボポエチンによるものと同一であった。以上の結果より、本発明化合物はトロンボポエチンと同じシグナルを伝達することによりアゴニスト活性を発現することが明らかとなった。

### 【0099】

#### 製剤例1

以下の成分を含有する顆粒剤を製造する

成分	式(1)で表される化合物	10mg
	乳糖	700mg
	コーンスターチ	274mg
	HPC-L	16mg
		1000mg

式(1)で表される化合物と乳糖を60メッシュのふるいに通す。コーンスターチを120メッシュのふるいに通す。これらをV型混合機にて混合する。混合末に低粘度ヒドロキシプロピルセルロース(HPC-L)水溶液を添加し、練合、造粒(押し出し造粒 孔径0.5~1mm)した後、乾燥する。得られた乾燥顆粒を振動ふるい(12/60メッシュ)で篩過し顆粒剤を得る。

### 【0100】

#### 製剤例2

以下の成分を含有するカプセル充填用散剤を製造する。

成分	式(1)で表される化合物	10mg
	乳糖	79mg
	コーンスターチ	10mg
	ステアリン酸マグネシウム	1mg
		100mg

式(1)で表される化合物と乳糖を60メッシュのふるいに通す。コーンスターチを120メッシュのふるいに通す。これらとステアリン酸マグネシウムをV型混合機にて混合する。10倍散100mgを5号硬ゼラチンカプセルに充填する



## 【0101】

## 製剤例 3

以下の成分を含有するカプセル充填用顆粒剤を製造する。

成分	式(1)で表される化合物	15mg
	乳糖	90mg
	コーンスターチ	42mg
	<u>HPC-L</u>	<u>3mg</u>
		150mg

式(1)で表される化合物と乳糖を60メッシュのふるいに通す。コーンスターチを120メッシュのふるいに通す。これらをV型混合機にて混合する。混合末に低粘度ヒドロキシプロピルセルロース(HPC-L)水溶液を添加し、練合、造粒した後、乾燥する。得られた乾燥顆粒を振動ふるい(12/60メッシュ)で篩過し整粒し、その150mgを4号硬ゼラチンカプセルに充填する。

## 【0102】

## 製剤例 4

以下の成分を含有する錠剤を製造する。

成分	式(1)で表される化合物	10mg
	乳糖	90mg
	微結晶セルロース	30mg
	ステアリン酸マグネシウム	5mg
	<u>CMC-Na</u>	<u>15mg</u>
		150mg

式(1)で表される化合物と乳糖と微結晶セルロース、CMC-Na(カルボキシメチルセルロース ナトリウム塩)を60メッシュのふるいに通し、混合する。混合末にステアリン酸マグネシウムを添加し、製剤用混合末を得る。本混合末を直打し150mgの錠剤を得る。

## 【0103】

## 製剤例 5

静脈用製剤は次のように製造する。

式(1)で表される化合物 100mg

飽和脂肪酸グルセリド 1000ml

上記成分の溶液は通常、1分間に1mlの速度で患者に静脈内投与される。

#### 【0104】

##### 【発明の効果】

本発明化合物は、トロンボポエチンレセプターに親和性及びアゴニスト作用を示すため、トロンボポエチンレセプター活性化作用が有効な疾患の予防・治療・改善薬、特に、血小板減少症等の血小板数の異常を伴う血液疾患の病態に対する薬剤や血管内皮および内皮前駆細胞の分化増殖を促進することで治療予防できる病態に対する薬剤として用いることができ、医薬品として有用である。

##### 【図面の簡単な説明】

##### 【図1】

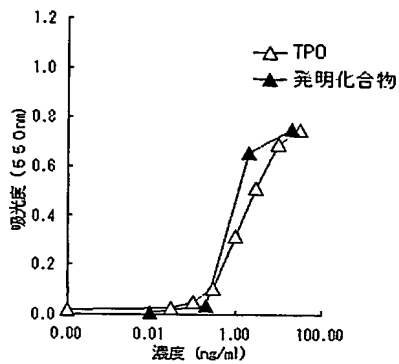
本発明化合物(キサントシリンXモノメチルエーテル)によるUT7/EPO-mpl細胞の増殖に対する効果を、MTT法を用いて評価した図である。

##### 【図2】

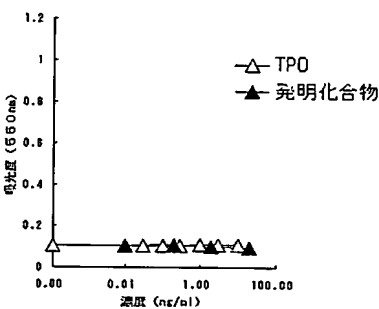
本発明化合物(キサントシリンXモノメチルエーテル)によるUT7/EPO細胞の増殖に対する効果を、MTT法を用いて評価した図である。

【書類名】 図面

【図 1】



【図 2】



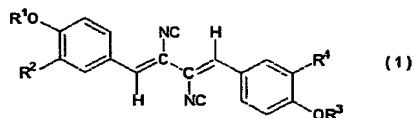
【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 トロンボポエチンレセプター活性化作用が有効な疾患の予防・治療・改善薬を提供する。

【解決手段】 式(1)

【化1】



[式中、 $R^1$ 及び $R^3$ はそれぞれ独立に、水素原子、 $SO_3H$ 、 $C_{1-6}$ アルキル基、 $C_{1-6}$ アルキルカルボニル基又は $C_{6-18}$ アリールカルボニル基（該 $C_{1-6}$ アルキル基、 $C_{1-6}$ アルキルカルボニル基及び $C_{6-18}$ アリールカルボニル基は、ハロゲン原子、水酸基、 $C_{2-6}$ アルケニル基、 $C_{1-6}$ アルコキシ基、 $C_{1-6}$ アルコキシカルボニル基、 $C_{6-18}$ アリール基、2-ピリジル基、3-ピリジル基、4-ピリジル基、2-フラニル基、3-フラニル基、2-チエニル基、3-チエニル基又は $NR^9R^{10}$ で任意に置換されていてもよい。）を意味し、 $R^2$ 及び $R^4$ はそれぞれ独立に、水素原子、水酸基又は $C_{1-6}$ アルコキシ基を意味する。] で表されるトロンボポエチンレセプター活性化剤。

【選択図】 なし

特願 2002-236167

出願人履歴情報

識別番号

[000003986]

1. 変更年月日

1990年 8月29日

[変更理由]

新規登録

住所

東京都千代田区神田錦町3丁目7番地1

氏名

日産化学工業株式会社

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**